

研究主論文抄録

論文題目 ヒラメの温度依存性性決定におけるコルチゾルの役割に関する研究
(Roles of cortisol in temperature-dependent sex determination in the Japanese flounder)

熊本大学大学院自然科学研究科 複合新領域科学 専攻 生命環境科学 講座
(主任指導 北野 健 准教授)

論文提出者 山口 寿哉
(by Toshiya Yamaguchi)

主論文要旨

《本文》

ヒラメは、XX/XYの性決定様式を示すが、XX個体は、性分化時期の高水温飼育により雄へと性転換することが明らかとなっている。ヒラメXX個体の27℃飼育による雄への性転換は、アロマターゼ mRNA の発現抑制によるエストロゲン量の減少が原因であると考えられている。しかしながら、アロマターゼの発現調節機構の全貌は明らかになっていない。

本研究では、高水温処理による雄化において、コルチゾルが生殖腺に直接影響しているのかを確認する共に、コルチゾルによるアロマターゼの転写抑制機構の解析を行った。一方、マウス等において遺伝的雄特異的に発現し、減数分裂を抑制するレチノイン酸代謝酵素である *cyp26b1* cDNA を単離し、性分化時期におけるこの発現パターンと減数分裂との関係についても解析を行った。

ヒラメの体全体、生殖腺及び頭腎におけるコルチゾル量の測定の結果、性分化開始時期周辺から、コルチゾル量は18℃飼育個体よりも27℃飼育個体において、高い値を示すことが確認された。また、コルチゾルを投与した生殖腺においては、アロマターゼ mRNA の発現が抑制され、雄特異的に発現する *mis* mRNA の発現が誘導されたことから、雄化しているのではないかと推測された。*in vitro* においては、培養細胞を用いたレポーターアッセイにより、コルチゾルは cAMP によって誘導された転写活性を濃度依存的に抑制する事が明らかとなった。また、ゲルシフトアッセイにより、CRE にコルチゾルの受容体である GR が直接結合する可能性を示すシフトバンドが検出された。これらのことから、コルチゾルと GR の複合体は、アロマターゼプロモーター上に存在する CRE に直接結合することで、アロマターゼの転写を抑制している可能性が示唆された。ヒラメ生体においては、ChIP アッセイの結果、27℃飼育個体では、18℃飼育個体と比較して、CRE への GR の結合量が有意に高い事が確認された。これらのことから、遺伝的雌ヒラメにおいて、高水温飼育により分泌が誘導されたコルチゾルは、GR を介してアロマターゼプロモーター上に存在する CRE に直接結合し、FSH シグナルによるアロマターゼ遺伝子の発現上昇を抑制していると考えられた。さらに、RACE 法により単離した *cyp26b1* mRNA の生殖腺における発現パターンは、雄のマーカーとなる *mis* mRNA と同様に孵化後 60 日から発現していることが観察され、性分化開始時期から雄化に伴って発現することが分かった。また、減数分裂マーカーである *syce3* mRNA は、通常飼育した個体と比較して、*syce3* mRNA の発現が高水温処理個体で有意に抑制されていることが確認された。

これらの結果から、高水温飼育は、コルチゾル量の上昇によりアロマターゼ遺伝子の発現抑制を引き起こしてエストロゲン量の増加を抑え、その結果として *cyp26b1* mRNA の発現が上昇して生殖細胞の減数分裂開始を阻害しているのではないかと考えられた。